

ляк [та ін.] // В кн.: Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації). За редакцією О. В. Стефанова. – К.: Авіцена, 2001. – С. 139–152.

13. Меркулов, Г. А. Курс патологистологической техники / Г. А. Меркулов. – М.: Медицина, Ленингр. отд-ние. – 1969. – 424 с.

14. Камышников, В. С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике / В. С. Камышников. – Мн. : Беларусь, 2000. – Т. 1. – 495 с.

15. Арутюнян, А. В. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма : метод. рекомендации / А. В. Арутюнян, Е. Е. Дубинина, Н. Н. Зыбина. – СПб.: ИКФ Фолиант, 2000. – 104с.

16. Халафян, А. А. STATISTICA 6. Статистический анализ данных. 3-е изд. Учебник / А. А. Халафян. – М. : ООО «Бинном-Пресс», 2007. – 512 с.

17. Нейроиммуноэндокринные механизмы старения / М. А. Пальцев [и др.] // Успехи геронтологии. – 2009. – Т. 22, №1. – С. 24–36.

18. Коррекция возрастного андрогенного дефицита и ее влияние на функциональное состояние мужского организма / Ю. Г. Аляев [и др.] // Андрология и гени-

тальная хирургия. – 2006. – № 2. – С. 6–14.

19. Lagouge, M. The role of mitochondrial DNA mutations and free radicals in disease and ageing / M. Lagouge, N. G. Larsson // J Intern Med. – 2013. – Vol. 273 (6). – P. 529–43.

20. Willett WC. The Mediterranean diet: science and practice. Public Health Nutr. – 2006 – Vol. 9. – P. 105. [PubMed].

21. Agarwal, A. The role of antioxidant therapy in the treatment of male infertility / A. Agarwal, L. H. Sekhon // Human Fertility. – 2010. – Vol. 13, N 4. – P. 217–225.

22. Kothari, S. Free radicals: their beneficial and detrimental effects on sperm function / S. Kothari, A. Thompson, A. Agarwal, S. S. du Plessis // Indian J. Exp. Biol. – 2010. – Vol. 48. – P. 425–435.

23. Oxidative stress and role of antioxidants in male infertility / R. Choudhary [et al.] // Pak. J. Physiol. – 2010. – Vol. 6. – P. 54–59.

Адрес для корреспонденции:

61002, Украина,

г. Харьков, ул. Куликовская, 12,

тел.: +38(057) 706-23-12; +380953477615,

e-mail: elenko926734@gmail.com,

Кошевая Е. Ю.

Поступила 13.08.2018 г.

В. В. Ковалев¹, Т. Г. Ярных¹, О. В. Демешко¹, В. Н. Ковалев², Т. П. Осолодченко³

ИЗУЧЕНИЕ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ МАЗЕЙ С СУХИМ ЭКСТРАКТОМ КАТАЛЬПЫ БИГНОНИЕВИДНОЙ

¹ **Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина**

² **Харьковский национальный медицинский университет**

³ **Лаборатория биохимии микроорганизмов и питательных сред
ГУ «ИМИ им. И.И. Мечникова НАМНУ»**

*С целью расширения ассортимента отечественных мазей, содержащих в качестве активных фармацевтических ингредиентов субстанции растительного происхождения, проведено исследование по установлению антимикробной активности образцов мазей на гидрофильной мазевой основе. На основе метода диффузии в агар экспериментально исследована и обоснована перспективность разработки мягких лекарственных форм, содержащих сухой (гидрофильную фракцию) экстракт листьев катальпы бигониевидной (*Catalpa bignonioides*), предназначенных для лечения инфекционных осложнений ран. Результаты проведенных исследований показали, что опытные образцы мазей обнаружили выраженную антимикробную активность на штаммы *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli*. Изучена зависимость антимикробной активности от концентрации активных фармацевтических ингредиентов и доказаны преимущества использования гидрофильной мазевой основы.*

Ключевые слова: мазь, мазевая основа, раневой процесс, экстракт катальпы, антимикробная активность.

ВВЕДЕНИЕ

Разработка современных методов лечения контаминированных ран, а также воспалительных процессов кожи не может в полной мере заменить использование перевязочных средств и мазей. Распространенность использования и отличительные преимущества мягких лекарственных форм предоставляют широкие возможности для совершенствования фармацевтических композиций, используемых при лечении упомянутых патологий [1, 2, 3].

Целесообразность разработки мягких лекарственных форм с использованием современных основ и активных фармацевтических ингредиентов (АФИ), эффективных в отношении резистентных возбудителей воспалительных процессов и воздействующих на основные патогенетические процессы в осложненных ранах, многократно доказана клиническими исследованиями [2, 4, 5, 6]. Даже с учетом достигнутых успехов фармацевтической отрасли, создание и совершенствование лекарственных препаратов для местного лечения гнойных ран относится к актуальным задачам фармацевтической отрасли. Непрерывно идет активный поиск антимикробных веществ растительного происхождения, которые могут быть использованы с указанной целью [7, 4, 8, 9]. Наше внимание привлёк сухой экстракт листьев катальпы, полученный на кафедре фармакогнозии Национального фармацевтического университета под руководством проф. Ковалева В.Н. и доц. Демешко О.В.

Химический состав экстракта представлен широким спектром биологически активных веществ и прежде всего фенольных соединений, обуславливающих высокую антимикробную, противовоспалительную, анальгезирующую, диуретическую и репаративную активность. Ранозаживляющее и бактерицидное действие коры, плодов и листьев катальпы объясняют наличием в растении фитонцидов. Листья катальпы применяют при лечении карбункулов, струпьев, абсцессов; отвар листьев катальпы используется при симптоматической терапии ряда офтальмологических заболеваний, приводящих к помутнению роговицы [7].

Целью нашей работы стала разработка опытных образцов мазей с сухим (гидрофильной фракцией) экстрактом листьев катальпы на гидрофильной мазевой основе и сравнительное изучение их антимикробных свойств с использованием наиболее распространенных возбудителей инфекционных процессов в ранах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Концентрации экстракта листьев катальпы, а также состав мазевых основ были выбраны на основе анализа литературных источников и исследований, проведенных ранее [2, 5, 10, 11]. Микробиологические исследования проводили в лаборатории биохимии микроорганизмов и питательных сред ГУ «ИМИ им. И.И. Мечникова НАМНУ» под руководством старшего научного сотрудника Осолодченко Т.П.

В соответствии с рекомендациями ВОЗ и Государственной Фармакопеи Украины для установления антимикробной активности мазей использованы штаммы: *Staphylococcus aureus* американской коллекции типовых культур (ATCC) 25923, *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Enterobacter cloacae*, *Proteus vulgaris* ATCC 4636, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* ATCC 885/653 [12, 13].

Суспензия микроорганизмов приготовлена с использованием прибора Densi-Lambda Meter (Чехия; длина волны 540 нм). Синхронизацию культур проводили при температуре 4 °C. Микробная нагрузка микробных клеток составляла 10^7 на 1 мл среды и устанавливалась в соответствии со стандартом McFarland. Для работы использовали культуру микроорганизмов после 18-24 часов выдержки. В исследованиях использовали агар Мюллера-Хинтона, а для *C. albicans* – агар Сабыро-декстрозный («HimediaLaboratories Pvt. Ltd India») [13, 14].

Определение антимикробной активности проводили методом диффузии в агар – «колодцами». Два слоя питательной среды, помещенные в чашки Петри, представляли собой подложку из 10 мл «голодного агара», на которую устанавливали 6 тонкостенных цилиндров диаметром 10 мм и высотой 10 мм, и верхний слой, со-

стоящий из питательной агаризованной среды, в которую была внесена культура тест-штамма. После застывания цилиндры извлекали и образовавшиеся лунки равномерно заполняли исследуемым образцом мази (0,25 – 0,3 мл).

При оценке результатов учитывали отсутствие зон угнетения роста тест-культур вокруг лунок. Зоны задержки роста микроорганизмов до 10 мм указывают на нечувствительность микроорганизмов к внесенному в лунку образцу; зоны задержки роста тест-культур диаметром 10-15 мм указывают на малую чувствительность культуры или низкую диффузионную способность изучаемого образца; диаметр зоны 15-25 мм оценивают как показатель чувствительности микроорганизмов к препарату и его высоких диффузионных свойств; зоны, которые превышают 25 мм, свидетельствуют о высокой чувствительности микроорганизмов к образцу мази. Диаметры зон задержки роста микроорганизмов измеряли с помощью мерной линейки с погрешностью измерения $\pm 0,1$ мм [13, 14].

Статистическая обработка результатов определения зон задержки роста микро-

организмов проведена в соответствии со статьей ГФУ 5.3. «Статистический анализ результатов биологических испытаний и количественных определений» с использованием пакета MS Excel [12]. Предполагая, что варьирование диаметров зон задержки роста микроорганизмов происходит по нормальному закону распределения Гаусса, среднее арифметическое диаметра и погрешности для него рассчитывали с помощью поправки на малые выборки, с использованием критерия Стьюдента при доверительной вероятности (Р) 0,95 и числе степеней свободы 5 [12].

Для определения антимикробной активности нами были изготовлены опытные образцы мазей с сухим гидрофильным экстрактом катальпы бигнониевидной с концентрацией 2% – образец №1, 5% - образец №2 и 10% – образец №3 на гидрофильной мазевой полиэтиленоксидной (ПЭО) основе (6:4) с добавлением твина-80, пропиленгликоля, воды очищенной. В качестве образца сравнения использовали раствор экстракта листьев катальпы гидрофильного с твином-80 1:1 (50%). Составы исследуемых образцов мазей приведены в таблице 1.

Таблица 1. – Составы мазей, г

№ п/п	Состав образцов	Общая масса	№1	№2	№3
1	Экстракта листьев катальпы гидрофильного	10,0	0,2	0,5	1,0
2	Твина-80	10,0	0,2	0,5	1,0
3	Пропиленгликоля	10,0	0,5	0,5	0,5
4	Воды очищенной	10,0	0,5	0,5	0,5
5	ПЭО-400	10,0	5,16	4,8	4,2
6	ПЭО-1500	10,0	3,44	3,2	2,8

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты изучения антимикробной активности исследуемых образцов мазей (методом диффузии в агар) приведены в таблице 2.

Результаты проведенных исследований показали, что образец мази №1 проявляет низкую антимикробную активность по отношению к штаммам *P. vulgaris*, *P. aeruginosa* и *C. albicans*; образец №3 проявляет высокую антимикробную активность по отношению к *S. aureus*, *S. pyogenes*, *E. coli*. Образцы №1, №2, №3 проявили умеренную активность (15-25 мм) по отношению к большинству штаммов микроорганизмов.

Проведенные исследования позволяют

утверждать, что для дальнейшего изучения рационально использовать образцы с концентрацией экстрактов катальпы бигнониевидной 5 % (№2) и 10 % (№3) на гидрофильной полиэтиленоксидной мазевой основе, поскольку эти образцы проявляют значительную активность на вышеуказанные тест-штаммы.

Последующими биофармацевтическими исследованиями планируется окончательно выбрать концентрацию экстракта катальпы, исследовать его противовоспалительную и репаративную активность, а также определить возможность рационального сочетания с другими биологически активными фармацевтическими ингредиентами.

Таблица 2. – Антибактериальная активность исследуемых образцов

Образцы	Диаметры зон задержки роста, мм							
	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>S. pyogenes</i>	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>E. cloacae</i>	<i>P. vulgaris</i> ATCC 4636	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	<i>C. albicans</i> ATCC 653/885
№1	18,3±0,9	16,7±0,8	19,0±0,9	17,0±0,8	12,7±0,6	13,7±0,6	18,3±0,6	13,3±0,6
№2	23,3±0,6	22,0±1,0	23,7±0,6	20,3±0,6	15,3±0,6	16,0±0,7	21,7±0,6	17,0±0,7
№3	27,3±0,6	25,0±1,0	25,3±0,6	23,0±1,0	19,3±0,6	19,3±0,6	24,7±0,6	19,0±0,9
Экстракт катальпы 50%	33,3±0,6	29,3±0,6	26,3±1,3	27,0±0,7	20,3±0,6	20,7±0,6	29,3±0,6	19,7±0,6

Примечание: n = 6, P = 0,95

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. На основе экспериментальных данных микробиологически обоснована перспективность и возможность разработки технологии мягких лекарственных форм на основе сухого экстракта катальпы бигнониевидной, предназначенных для лечения гнойно-воспалительных заболеваний кожи различной этиологии.

2. Проведенными исследованиями доказано, что по выраженности антимикробных свойств оптимальными для использования в составе мазей являются 5% и 10% концентрации сухого экстракта листьев катальпы бигнониевидной.

3. Экспериментально доказано, что исследуемые мягкие лекарственные формы, изготовленные на гидрофильной основе (сплав ПЭО-400 и ПЭО-1500 – 6:4) с добавлением твина-80, пропиленгликоля и воды очищенной, проявляют выраженную антимикробную активность и пригодны для лечения гнойно – воспалительных заболеваний кожи.

SUMMARY

V. V. Kovalev, T. G. Yarnykh,
O. V. Demeshko, V. N. Kovalev,
T. P. Osolodchenko
STUDYING ANTIMICROBIAL ACTIVITY
OF OINTMENTS WITH CATALPA
BIGNONIOIDES DRY EXTRACT

The study has been conducted to establish the antimicrobial activity of ointment samples on a hydrophilic ointment base to diversify domestic ointments containing substances of a plant origin as active pharmaceutical ingredients (API). The perspective development of soft dosage forms containing *Catalpa Bignonioides* leaves dry (hydrophilic fraction) extract

intended for the treatment of infectious complications of wounds has been experimentally investigated and substantiated based on agar diffusion method. The results of the studies have showed that the experimental samples of ointments have exhibited expressed antimicrobial activity on the strains of *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli*. The dependence of antimicrobial activity from the API concentration has been studied and the benefits of using hydrophilic ointment base have been established.

Keywords: ointment, ointment base, wound process, *Catalpa* extract, antimicrobial activity.

ЛИТЕРАТУРА

1. Даценко, Б. М. Гнойная рана / Б. М. Даценко, С. Г. Белов, Т. И. Тамм. – К.: Здоров'я, 1985. – 134 с.
2. Лікарські препарати для місцевого лікування ран: сучасний стан та перспективи розвитку / Л. В. Яковлева [та ін.] // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2011. – № 1 (14). – С. 18–27.
3. Перцев, И. М. Разработка лекарственных препаратов многонаправленного действия на гнойно-воспалительный процесс: обоснование состава, производства, клинический опыт применения / И. М. Перцев, Б. М. Даценко, В. Г. Гунько // Фармац. журн. – 1991. – № 3. – С. 56–61.
4. Абаев, Ю. К. Справочник хирурга. Раны и раневая инфекция / Ю. К. Абаев. – Ростов н/Д: Феникс, 2006. – 427 с.
5. Effects of a topically applied wound ointment on epidermal wound healing studied by in vivo fluorescence laser scanning microscopy analysis / B. Lange-Asschenfeldt [et al.] // J. Biomed. – 2009. – V. 14(5). – P. 54–41.

6. Formulation, and physical, in vitro and ex vivo evaluation of transdermal ibuprofen hydrogels containing turpentine oil as penetration enhancer / N. R. Khan [et al.] // Die Pharmazie. – 2011. – Vol. 66, № 11. – P. 849–852.

7. Андрианова, Л. Н. Химический состав и строение триацилглицеринов масла семян катальпы и некоторых других высыхающих масел : дисс. ... канд. хим. наук : 02.00.01. – Калинин, 1985. – 195 с.

8. Panchagnula, P. Biopharmaceutics and pharmacokinetics in drug research / P. Panchagnula, N. Thomas // Int. J. Pharmac. – 2000. – Vol. 17, № 4. – P. 131–150.

9. Wagner, H. Plant drug analysis / H. Wagner, S. Bladt. – Berlin: Springer, 2001. – 384 p.

10. Jerkovic, I. Volatile compounds from leaf-buds of *Populus nigra* L. (Salicaceae) / I. Jerkovic, J. Mastelic // Phytochemistry. – 2003. – № 63. – P. 109–113.

11. Shegokar, R. SiRNA Delivery : Challenges and role of carrier systems // R. Shegokar, L. A. L. Shaal, P. R. Mishra / Die Pharmazie. – 2011. – Vol. 66, № 5. – P. 313–318.

12. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-е вид. – Доповнення 3. – Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2018. – С. 145–185.

13. Про затвердження методичних вказівок «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів» : Наказ МОЗ України №167 від 05.04.2007 р.

14. Бойко, Н. Н. Скрининг антимикробных свойств спиртоводных вытяжек из некоторых видов растительного сырья, содержащего хинонпроизводные / Н. Н. Бойко, А. И. Зайцев, Т. П. Осолодченко // Анналы Мечниковского института. – 2014. – № 4. – С. 67–72.

Адрес для корреспонденции:

61183, Украина,

г. Харьков, ул. Блюхера, 4,

Национальный фармацевтический университет,

кафедра технологии лекарств,

т. моб. – +38-068-641-53-42,

e-mail: volodyakw@gmail.com,

Ковалев В. В.

Поступила 06.09.2018 г.